

电场处理油葵种子后对其萌发期抗旱性的影响

侯建华¹, 杨体强², 吕剑刚², 杨丽君¹, 邓一兵³

(1. 内蒙古农业大学农学院, 内蒙古 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古大学理工学院, 内蒙古 呼和浩特 010021;

3. 浙江海洋大学海洋技术学院, 浙江 舟山 316004)

摘要: 用不同电场条件处理油葵种子, 以 PEG(聚乙二醇)模拟水分胁迫, 通过高渗溶液萌发法、种子吸水率和膜脂过氧化检测法测定电场处理对油葵种子萌发期抗旱性的影响。结果表明, 不同处理条件对油葵种子在萌发期对水分胁迫的适应性影响不同。通过电场处理能够提高油葵种子吸水速率及在水分胁迫条件下的发芽势、发芽率; 降低水分胁迫对种子细胞膜的伤害, 提高种子萌发期体内超氧化物歧化酶、过氧化物酶的活性, 减少了膜脂过氧化产物丙二醛的积累。所有这些变化都有利于缓解水分胁迫对油葵种子的伤害, 提高其对水分胁迫的适应性。

关键词: 电场处理; 油葵种子; 萌发期; 抗旱性

中图分类号: Q689 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6737(2003)02-0193-05

干旱是影响我国特别是北方地区粮食产量的一个最主要的因素。而我国北方地区的春旱表现得尤为严重, 直接影响着种子的萌发与出苗, 所以提高作物种子萌发出苗期的抗旱性对于干旱与半干旱地区的农业生产具有重要意义。国内外已有的大量实验研究表明, 电场处理种子, 对萌发、活力、生理、生化过程、幼苗生长、植株生育性状及产量具有明显的影响^[1-3]。进入 20 世纪 80 年代, 电场处理种子技术在农业上应用日趋广泛。近年国内已有人发现电场处理植物体影响其抗逆能力^[4,5], 而电场处理种子, 对其萌发出苗期抗旱性的影响及机制方面的报道甚少。我们用不同强度电场处理油葵种子, 探讨电场处理对油葵种子萌发出苗期抗旱性的影响, 并试图从膜生物学及自由基生物学角度来综合分析电场的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试的油葵种子 F128 由内蒙古蒙丰种子公司提供。

1.2 种子电场处理方法

根据所设电场强度条件个数 N , 挑选饱满且外形差异较小的一定量种子, 随机分成 $(N+1)$ 份, 其中一份作为对照组 ($E=0$ kV/cm)。其它 N 份分别置

于平行板电极形成的电场中, 用不同强度的电场处理一定时间。本实验所用电极电压波形为 50 Hz 半波整流, 电场强度共 12 个, 即: $E_n=0.5 \times n$ (kV/cm), $n=1,2,3,\dots,12$, 处理时间为 20 min。对照组记为 Ck。

1.3 种子吸水率的检测

不同电场条件处理过的油葵种子各取 30 粒置于烧杯中, 重复三次, 用清水浸泡种子, 使其吸胀 36 h。前 10 h 每隔 2 h 检测一次吸水量, 第 24 h、第 30 h 和第 36 h 各检测一次。测定值是: $(\text{湿重}-\text{干重}) / \text{干重} \times 100\%$ 。

1.4 种子的水分胁迫处理

取俩对照组 Ck1 和 Ck2, 将 Ck2 和各处理组以聚乙二醇 (分子量 6000) 诱导的渗透压 (-8.2×10^5 pa) 模拟水分胁迫。至种子“露白”后开始测定种子的各项指标。

1.5 发芽率和发芽势的测定

处理后的种子利用常规方法进行发芽实验, 每个培养皿 50 粒种子, 5 次重复, 在 25 °C 的恒温箱中萌发, 每天添加 PEG6000 溶液一次, 以保持胁迫的渗透压不变, 并记录发芽数。萌发第三天测发

收稿日期: 2001-10-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(39860026)

作者简介: 侯建华, 副教授, 在读博士, 电话:(0471) 4308656, E-mail: houjianhua@yeah.net

芽势, 第七天测发芽率。

1.6 细胞膜相对透性的测定

参照李锦树的方法^[6], 用 DDS-11A 型电导仪测定电导率, 取油葵种子 10 粒置于 20 ml 的具塞试管中加 10 ml 无离子水, 在室温下浸泡 4 h, 测电导率初值, 然后沸水中煮 15 min 冷却至室温后测电导率终值, 6 次重复。以相对电导率表示细胞膜相对透性, 其值为电导率初值 / 电导率终值 × 100%。

1.7 丙二醛 (MDA) 含量的测定

取 1 g 萌发的油葵种子用 1:10 的 50 mmol/L pH7.8 的磷酸缓冲液在冰浴中研磨成匀浆。匀浆用 4 层纱布过滤, 将滤液在 4℃ 下以 15000 r/min 离心 20 min, 取上清测定 MDA 含量。取 1.5 ml 提取液, 加入 2.5 ml 0.5% 硫代巴比妥酸的 5% 三氯乙酸溶液, 在沸水浴中加热 10 min, 迅速冷却, 以 1800 r/min 离心 10 min, 以空白液为对照测定上清液在 532 nm 和 600 nm 下的光密度值, 丙二醛的消光系数是 1.55×10^{-1} ml/nmol, MDA 的含量计算参照张宪政主编的《作物生理研究法》^[7]。

1.8 SOD 活性的测定

酶液提取方法同上。SOD 活性按刘祖祺主编的《植物抗性生理学》^[7], 酶反应体系加样次序: 62.5 mmol/L (pH7.8) PBS 2.4ml、0.06 mmol/L 核黄素 0.2 ml、30 mmol/L 蛋氨酸 0.2 ml、0.003 mmol/L EDTA 液 0.1 ml, 加 25 μ l 酶液、1.125 mmol/L NBT 0.2 ml, 置于 400 lux 下反应 25 min 进行光化还原。测定反应液在 560 nm 下

的光密度值, 以抑制 NBT 光化还原 50% 作为一个酶单位 (n), 酶活性以 U/g·FW 表示。

1.9 POD 活性的测定

采用比色法^[7,8]。取萌发油葵种子各 1 g, 三次重复, 分别加 10 ml pH8.5 的 Tris-HCl 缓冲液, 在冰浴中捣成匀浆, 3500 r/min 离心 15 min, 取上清液备用: 每样品需三支试管, 分别加入醋酸缓冲液 1 ml, 0.1% 邻甲氧基苯酚 1 ml 及酶液 1 ml, 置于 30℃ 恒温水浴 5 min, 加入 0.08% 双氧水 1 ml, 摇匀倒入比色杯, 计时, 在 470 nm 波长下比色, 每隔 1 min 读 1 次, 以每分钟吸光度变化值表示酶活性大小。

以上测定均为 3 次重复, 方差分析采用 LSD 方法。

2 结 果

2.1 电场处理对种子吸水速率的影响

水分是种子萌发的先决条件, 在吸收一定量水分后才能萌发, 而且不同种类种子发芽时对水分的要求不同, 种子吸水后从静止状态转为活跃状态。从表 1 看出, 不同电场强度处理对吸水率的影响程度不同。处理组与对照组 Ck1 相比, 吸水速率都有所提高, 第 36 h 提高幅度在 2.0%~14.9%。处理条件 2.0 kV/cm、3.0 kV/cm 和 6.0 kV/cm 与对照组相比, 提高幅度最大, 分别达到 11.9%、14.9% 和 14.0%。与对照组相比, 其差异达到极显著水平 ($P < 0.01$)。处理组 0.5 kV/cm、4.0 kV/cm 和 4.5 kV/cm 与对照组相比, 其差异达到显著水平

Table 1 Effect of electric field on the absorption rate of sunflower seeds

Electric field strength(kV/cm)	Water absorption rate of sunflower seeds(%)								Increment at 36 h
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	30 h	36 h	
Ck1	30.8± 1.5	38.8± 1.4	45.8± 1.0	50.3± 1.4	55.73± 1.2	70.9± 1.2	72.6± 1.3	73.8± 1.5	0
0.5	35.1± 1.0	45.8± 1.3	53.2± 1.5	56.1± 1.3	60.72± 1.3	71.7± 1.2	76.5± 1.5	78.5± 1.3	6.4
1.0	34.6± 1.2	52.0± 1.5	53.1± 1.3	54.7± 1.2	63.21± 1.3	68.5± 1.3	73.1± 1.4	76.2± 1.5	3.3
1.5	35.8± 1.3	46.8± 1.5	54.0± 1.4	55.3± 1.2	61.20± 1.1	69.6± 1.0	70.1± 1.3	75.6± 1.5	2.5
2.0	36.8± 1.4	49.7± 1.2	55.6± 1.1	57.7± 1.3	63.30± 1.3	71.4± 1.4	78.2± 1.4	82.6± 1.3	11.9
2.5	36.0± 1.4	45.0± 1.4	52.8± 1.3	54.0± 1.3	60.62± 1.4	68.8± 1.9	74.0± 1.6	78.2± 1.3	6.0
3.0	37.5± 1.4	46.3± 1.5	51.4± 1.3	56.5± 1.3	65.47± 1.3	76.3± 1.4	81.0± 1.5	84.8± 1.1	14.9
3.5	43.5± 1.3	42.0± 1.5	53.1± 1.4	54.2± 1.4	59.53± 1.5	69.6± 1.9	72.5± 1.2	75.3± 1.7	2.0
4.0	32.6± 1.2	45.5± 1.2	54.0± 1.6	55.1± 1.3	62.20± 1.1	72.7± 1.3	76.7± 1.4	80.0± 1.5	8.3
4.5	33.7± 1.6	46.1± 1.5	51.4± 1.2	56.0± 1.3	63.00± 1.0	75.8± 1.4	79.3± 1.1	80.0± 1.4	8.4
5.0	34.6± 1.3	52.0± 1.3	53.0± 1.3	54.7± 1.0	63.00± 1.5	68.5± 1.3	73.2± 1.6	76.3± 1.8	3.4
5.6	34.0± 1.3	41.5± 1.2	51.8± 1.3	54.2± 1.6	60.17± 1.4	66.2± 1.1	171.6± 1.3	75.3± 1.9	2.1
6.0	45.8± 1.7	58.9± 1.5	68.9± 1.2	69.6± 0.9	75.88± 1.3	81.2± 1.1	82.3± 1.5	84.2± 1.3	14.0

($P < 0.05$)。

2.2 电场处理对渗透胁迫下油菜种子发芽率与发芽势的影响

目前, 大多数的研究结果都已证实, 田间出苗率与种子活力呈正相关。高活力的种子由于有较强的生命力, 对于旱有较强的抵抗能力。由表 2 和图

Table 2 Effects of electric field treatment on the germination percentage, the germinating energy, the activity of SOD and POD, the content of MDA and the relative electric conductivity of sunflower seeds under hyperosmotic solution stress

Electric field strength(kV/cm)	Germination percentage(%)	Germinating energy(%)	POD activity (OD ₄₇₀ /g·min)	SOD activity (units/g·Fw)	MDA content (nmol/g·Fw)	Relative electric conductivity(%)
Ck1	98± 1	88± 2	5.0± 0.2	349.2± 4.9	13.8± 0.8	15.1± 0.9
Ck2	90± 1	82± 1	3.3± 0.1	281.1± 3.3	15.4± 0.4	16.3± 1.0
0.5	90± 1	83± 1	3.7± 0.1	311.0± 5.5	13.9± 0.8	13.4± 1.0
1.0	94± 2	85± 2	3.6± 0.2	298.2± 6.1	15.4± 0.6	16.3± 0.4
1.5	90± 1	82± 1	3.0± 0.2	259.2± 6.2	16.5± 0.8	17.8± 0.6
2.0	95± 2	87± 1	4.0± 0.2	336.7± 4.6	10.8± 0.5	9.3± 0.5
2.5	90± 1	82± 2	3.7± 0.1	265.9± 3.7	13.7± 0.6	14.4± 0.7
3.0	87± 3	84± 2	3.1± 0.2	271.0± 5.4	13.3± 0.7	13.2± 1.0
3.5	96± 1	89± 1	4.0± 0.1	351.9± 3.9	11.0± 0.6	11.2± 0.7
4.0	92± 1	83± 1	3.3± 0.2	269.0± 6.9	17.0± 0.6	18.3± 1.1
4.5	96± 1	89± 1	4.0± 0.1	337.6± 6.4	13.3± 0.8	12.2± 1.2
5.0	95± 1	88± 1	4.0± 0.2	341.5± 4.8	9.8± 0.7	10.2± 0.7
5.5	96± 1	87± 1	3.1± 0.2	267.0± 6.7	12.5± 0.7	18.1± 1.1
6.0	95± 3	86± 2	4.0± 0.1	341.8± 4.2	9.9± 0.7	10.8± 0.9

1 可见, 在 PEG 胁迫后, Ck2 与 Ck1 组 (未经 PEG 胁迫) 相比, 种子的发芽率和发芽势均表现为降低。但各处理组与 Ck2 组相比表明: 电场处理对发芽率和发芽势产生明显影响。发芽率提高幅度在-3.0%~6.8%。因为实验用种子是挑选的, 所以, 发芽率提高幅度变化不大。发芽势提高幅度在 0%~8.2%, 处理条件 2.0 kV/cm、3.5 kV/cm、

4.5 kV/cm、5.0 kV/cm 和 5.5 kV/cm 与对照组相比, 提高幅度达到极显著水平 ($P < 0.01$), 发芽率分别提高 5.2%、6.7%、6.7%、5.2%和 6.8%, 发芽势分别提高 6.5%、8.2%、8.2%、7.7%和 6.5%。这说明油菜种子经适当条件的电场处理后, 能够提高在水分胁迫下种子的发芽率和发芽势, 这对提高油菜旱地出苗率具有重要意义。

2.3 电场处理对渗透胁迫下油菜种子 POD 酶和 SOD 酶活性的影响

由表 2 和图 2 可见, 在 PEG 胁迫后, Ck2 与 Ck1 相比, 种子的酶活性均表现降低。但各处理组与 Ck2 组相比可见, 经恰当电场处理后的种子在 PEG 胁迫下, 其二种抗氧化酶活性均较明显提高, 并且不同处理条件产生不同程度影响。其中, POD 提高幅度在-10.0%~21.0%, 处理条件 2.0 kV/cm、3.5 kV/cm、4.5 kV/cm、5.0 kV/cm 和 6.0 kV/cm 与对照组相比, 分别提高幅度为 18.9%、19.7%、20.8%、21.0%和 19.4%, 其差异达到极显著水平 ($P < 0.01$)。SOD 提高幅度为-7.8%~25.2%, 处理条件 2.0 kV/cm、3.5 kV/cm、4.5 kV/cm、

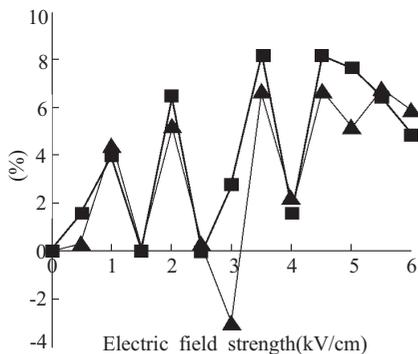


Fig.1 Effect of electric field on the germination energy and germination percentage under water stress.
 ▲ Germination percentage
 ■ Germinating energy

5.0 kV/cm 和 6.0 kV/cm 与对照组相比，分别提高幅度为 19.8%、25.2%、20.1%、21.5%和 21.6%，其差异达到极显著水平 ($P<0.01$)。实验结果表明，用适当电场条件处理油葵种子能显著提高其在水分胁迫下 POD 和 SOD 活性，从而降低水分胁迫对细胞膜的伤害，提高种子对水分胁迫的适应性。

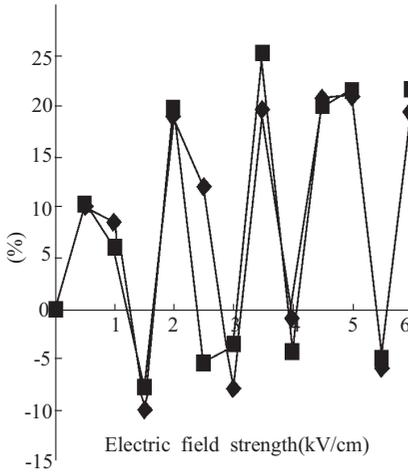


Fig.2 Effect of electric field on the POD and SOD activity under water stress. ◆ POD ■ SOD

2.4 电场处理对渗透胁迫下油葵种子 MDA 含量和电解质泄漏率的影响

水分胁迫对细胞造成的伤害之一就是细胞膜透性的提高，而 MDA 含量和电解质泄露率是细胞膜损伤的重要指标。从表 2 的 Ck1 和 Ck2 比较看出，PEG 胁迫使电解质泄漏率和 MDA 含量增加，这说明油葵种子在水分胁迫伤害下，膜结构发生了改变，膜透性加大。但是在同样的渗透胁迫下，经适当电场处理种子，其电解质泄漏率和 MDA 含量明显低于对照组 Ck2。这说明电场处理能够降低水分胁迫对细胞质膜的伤害，缓解干旱损害。由图 3 可知，处理条件 2.0 kV/cm、3.5 kV/cm、5.0 kV/cm 和 6.0 kV/cm 与对照组相比，对于 MDA 含量，分别降低幅度为 30.2%、28.9%、36.5%、和 35.8%，

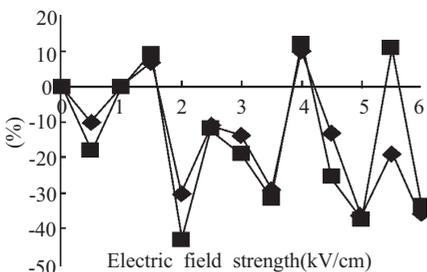


Fig.3 Effect of electric field on the relative electric conductivity and MDA content under water stress ◆ MDA ■ Relative electric conductivity

其差异达到极显著水平 ($P<0.01$)。对于电解质泄漏率，处理条件 2.0 kV/cm、3.5 kV/cm、5.0 kV/cm 和 6.0 kV/cm 与对照组相比，分别降低幅度为 42.9%、31.3%、25.2%、37.4%和 33.7%，其差异达到极显著水平 ($P<0.01$)。

3 讨 论

实验表明，不同电场处理条件对油葵种子生物量的影响程度不同。生物量随电场强度增加呈非单调型变化。电场处理种子可提高种子吸水速率。由于提高种子的吸水率，从而缩短萌发需水的临界时间。在春季干旱少雨地区，种子的这种适旱特性对生产中的抗旱保苗十分重要。

电场处理种子可提高种子在水分胁迫条件下的发芽势、发芽率。这可能与电场处理提高油葵种子内酯酶、淀粉和蛋白酶活性及其作用产物可溶性糖、可溶性蛋白质、游离氨基酸的含量有关。种子浸泡液的电导率是反映膜透性的重要指标。油葵种子受到水分胁迫后，其电导率的增加表明膜的完整性受到破坏，透性加大。而相同水分胁迫下，经适当电场处理的种子，其电导率增加明显小于未经处理的种子。这说明电场处理种子可以减轻细胞膜对干旱胁迫的敏感性。可以推测，电场处理提高植物抗旱性的作用可能是通过稳定膜和细胞壁的结构起作用的。

MDA 是细胞膜脂质过氧化的产物之一，常用来评价膜系统受过氧化作用而致的损伤和变性。SOD 和 POD 主要功能是通过清除水分胁迫诱导产生的细胞内活性氧自由基，抑制膜内不饱和脂肪酸过氧化作用及其产物 MDA 的积累。油葵种子在萌发期受到水分胁迫后，MDA 含量增加，而 SOD 和 POD 活性下降，说明水分胁迫过程中膜脂过氧化作用的增强是膜伤害的一个重要原因。适当电场处理种子提高了水分胁迫下 SOD 和 POD 活性，降低 MDA 含量。因此可以认为，电场处理是通过降低膜脂过氧化作用，维持细胞质膜的稳定性和完整性来增强对水分胁迫的抗旱性。综合各项抗旱指标，我们可以看出，处理条件 2.0 kV/cm、3.5 kV/cm 和 6.0 kV/cm 是提高油葵萌发期抗旱性的适宜条件。

参考文献:

- [1] Sidaway GH, Aspray GF. Influence of electrostatic field on plant respiration[J]. *Int J Biometeor*, 1968,12:321~329.
- [2] Tong TY. Electric activation of membrane enzymes[A]. In: First East Asian Symposium on Biophysics[C]. Japan: Sponsored by the Biophysical Society of Japan, 1994. 39.
- [3] 张振球. 静电生物效应[M]. 北京: 万国学术出版社, 1989.1~6.
- [4] 赵剑, 马福荣, 杨文杰, 等. 高压静电场预处理种子对大豆幼苗抗冷害的影响[J]. *生物物理学报*, 1997,13:489~493.
- [5] 杨体强, 梁运章, 李梦莲, 等. 电场作用油菜种子后苗期生长抗旱性的试验[J]. *内蒙古大学学报 (自然科学版)*, 1998,28:778~780.
- [6] 李锦树, 王洪春, 王文英. 干旱对玉米叶片细胞膜的影响[J]. *植物生理学报*, 1983,9:223~229.
- [7] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993. 222~285.
- [8] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1992. 210~211.

EFFECT OF ELECTRIC FIELD TREATMENT OF SUNFLOWER SEEDS ON THE DROUGHT RESISTANCE IN THE GERMINATION STAGE

HOU Jian-hua¹, YANG Ti-qiang², LV Jian-gang², YANG Li-jun¹, DENG Yi-bing³

(1. College of Agriculture, Inner Mongolia Agriculture University, Hohhot 010018, China;

2. College of Science & Technology, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China;

3. Marine Science and Technology College of Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316004, China)

Abstract: After the sunflower seeds were treated with different electric field strength and water stressed with PEG, the effects of electric field on drought resistance of sunflower seeds in the germinating stage were tested. The germination in high osmotic solution, the seed water absorption and the membrane lipid peroxidation were determined. The results have shown that different electric field strength has different effects on the water stress adaptability of the seeds in the germinating stage. The electric field treatment can increase seed water absorption rate, germinating energy, germination rate and decrease the damage to the cell membrane of the seeds. It also can enhance the activity of superoxide dismutase and peroxidase and so the accumulation of malon-di-aldehyde in the seeds can be diminished. All these changes were favorable for reducing the damage and strengthening the adaptability of water stress of the seeds.

Key Words: Electric field; Sunflower seeds; Germination stage; Drought resistance